

潰瘍性大腸モデルマウスから健康食品の機能性を探る

－ マヌカハニーと食物繊維は大腸炎を改善した －



実施担当者 山村学園 山村国際高等学校
教諭 中西 貴裕

1 背景

山村国際高等学校生物部の研究テーマは、微生物(真正細菌)を使用した天然の抗菌力をもつ食品の抗菌効果である^{1~3)}。特にマヌカハニー(以下、MH)には、ニュージーランド修学旅行のファームステイ先で、先住民から伝えられた「風邪にはMHをひと舐め」の習慣があると聞き、抗菌力をもつ健康食品と理解した。

そこで2014年、食中毒原因菌をマーカーとしてMHの高い抗菌力(抗菌活性成分はメチルグリオキサール(以下、MG))を報告した⁴⁾。また2015年、消費者庁の保健機能食品の制度改変を契機に、MHの高い抗菌力をセルフケアに役立てようとマウスに投与し、解析の結果、高価なMH10g摂取は腸内フローラのバランス改善(善玉菌の優勢)を図り、プロバイオティクスの乳酸菌飲料より優れた機能性を持つと報告した^{5・6)}。そして2016年、MG含有量が多い高価なMHではなく、この含有量が少ない安価なMHとプレバイオティクスのオリゴ糖の同時摂取により、高価なMHと同等な機能性の発揮はもちろんのこと、人工甘味料(NAS)の摂取により乱れた腸内フローラのバランスも改善すると報告した⁷⁾。また昨年(2017年)には、さらに安価なMHと食物繊維の同時摂取により腸内フローラのさらなる改善を報告した⁸⁾。

今回は、今までのMHによる腸内環境の改善が、本当にこの機能性(仮説)なのか。治療薬開発の手法から、疾患動物モデルによる薬効(治療)評価により機能性を検証した。

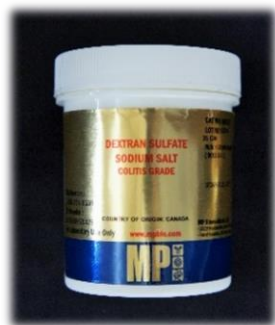
2 材料および方法

2-1 潰瘍性大腸モデルマウスの作製

潰瘍性大腸炎モデルマウスは、6週令のC57BL(♂)に0.8%DSS(デキストラン硫酸ナトリウム)水溶液を飲水として自由に摂取させ作製した(図1)。そして、下痢と血便を伴う個体(13日目の糞便スコア値: 2⁹⁾)を潰瘍性大腸炎(腸内フローラの圧縮されたりセット状態)と判断した。

2-2 薬効評価に使用したマヌカハニーとデキストリン

薬効(治療)評価には、MG含有量の少ない安価なMH100(MG 100 mg/kg) (マヌカヘルス社)¹⁰⁾ やプレバイオティクスの水溶性食物繊維のデキストリン(以下、Dex.)、またMHにDex.を添加し、ヒトの体重60kgあたり1日の摂取量(10~20g)に換算して、潰瘍性大腸炎(腸内フローラのリセット状態)のマウスに1日1回、約2週間強制投与した(図2・図3、表1)。したがって、これらの材料から実験区は3群、対照区は1群(水)とし、マウスは1群を3匹とした。なお投与による薬効(治療)評価の間の水(水道水)と餌(CE-2:日本クレア)¹¹⁾は自由摂取させた。



(図1) DSS



(図2) MH100



(図3) 水溶性デキストリン

(表1) 薬効(治療)評価^{*1} 実験区①~③におけるマウス強制投与(摂取)量(ヒト60kg換算値)

	実験区①	実験区②	実験区③
マウス投与量	3.5mg/0.1mL	3.5mg/0.1mL	7.0mg/0.1mL
ヒト60kg	デキストリン	マヌカハニー100 ^{*2}	マヌカハニー100 ^{*2} とデキストリン
1日摂取量	10g相当	10g相当	(10+10)g相当

※1:潰瘍性大腸炎誘発後(13日目より) ※2:抗菌活性成分(MG)含有量(100mg/kg)の安価なマヌカハニー

2-3 薬効評価の判断

薬効(治療)評価の判断は、腸内フローラによるプロファイル評価(T-RFLP法:16S rRNA)。また血液成分(赤血球数は貧血・白血球数は炎症)と体重による生理学的評価。さらにHE染色による直腸側の粘膜病変部の観察による組織学的評価を行った。

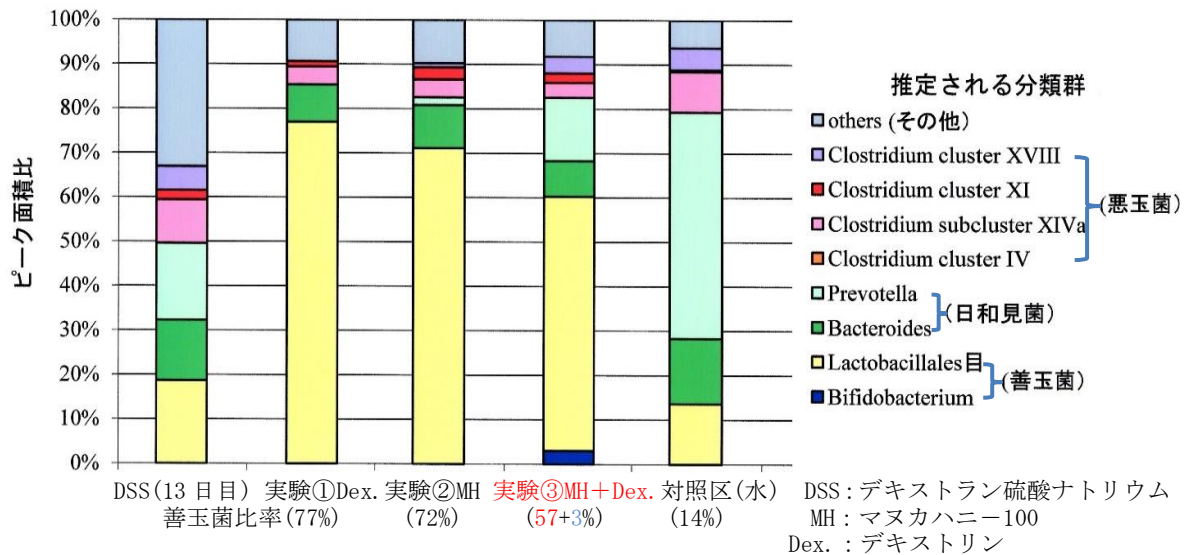
3 結果および考察

プロファイル評価による薬効(治療)は、DSSにより潰瘍性大腸炎(腸内フローラのリセット状態)を誘発した13日目から、マウスに水溶性食物繊維のDex.を単品投与すると、日和見菌や悪玉菌が減少した。これはDex.が善玉菌の餌となり、この菌の増加により日和見菌や悪玉菌が減少したと考えた。また安価なMHの単品投与でも、抗菌活性成分のMGは少ないものの、これが日和見菌や悪玉菌を抑えるので善玉菌の増加につながると考えた。しかしDex.やMHの単品投与は、善玉菌に対する日和見菌と悪玉菌とのバランスを欠き、さらに腸内環境の改善の目安となるビフィズス菌(*Bifidobacterium*)も全く現れない。一方、MHにDex.を添加して投与すると、腸内フローラのバランスも改善されビフィズス菌(*Bifidobacterium*)の出現という機能性も発揮された(図4)。

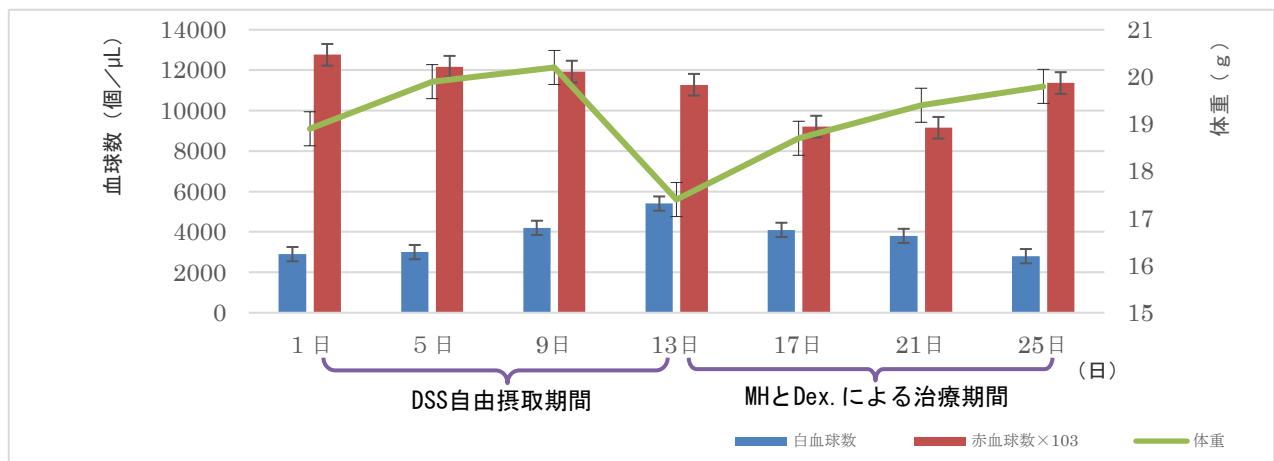
一方、生理学的評価で薬効(治療)が高かったのは、これもMHにDex.の添加であった。これは潰瘍性大腸炎(腸内フローラのリセット状態)を誘発した13日目から、赤血球数の増加(貧血の改善)と白血球数の減少(炎症の改善)、また体力の回復につながる体重の増加が一番良好なことから、これらの高い薬効(治療)は、MHの機能性によるものと考えた(図5)。

最後の組織学的評価による薬効(治療)では、潰瘍性大腸炎を誘発した13日目の直腸側の粘膜病変部には好中球や多量の炎症細胞が観察され、Dex. やMHの単品投与では回復が悪く、この状態から一番良好な回復を示したのは、これもMHにDex. の添加であった(H.E染色顕微鏡写真は省略)。

以上の結果から、安価なMH100に水溶性食物繊維のDex. を添加して摂取すれば、セルフケア(健康の維持増進)に適した健康食品としての高い機能性を発揮すると考えた。



(図4) 潰瘍性大腸炎と実験①～③および対照区のマウス腸内フローラのプロファイル(n=3) (13日目)
推定されるプロファイル: 紫色・赤色・桃色は「悪玉菌」
鶯色・緑色は「日和見菌」 黄色・青色は「善玉菌」



(図5) 潰瘍性大腸炎(DSS投与13日目)からMHとDex. による薬効(治療)評価(n=3)
※: Dex. 単品やMH単品による薬効(治療)評価のグラフは省略

4 結論

MG含有量の少ない安価なMH100に水溶性食物繊維のDex. を添加して摂取すれば、この薬効(治療)は、潰瘍性大腸炎を誘発したマウス腸内フローラのバランスを改善(ビフィズス菌の出現)する。また悪化した血液成分(赤血球数の増加、白血球数の減少)や体重の増加も正常に向かい、直腸側の粘膜病変部への薬効(治療)も現れる。すなわちMHとDex. による薬効は、セルフケア(健康の維持増進)に適した優れた機能性である。

5 今後の展望

腸内フローラの改善を図れば難病の克服にもつながる。ヒトと同じ哺乳動物であるマウスを疾患動物モデルにした研究には意義があると考えます。今後いろいろな食材との組み合わせから腸内フローラの改善を図り、人々のセルフケアを追求したい。

謝 辞

今回、終始ご指導を頂いた本校生物部の天野誉先生には感謝の意を表します。なお本研究は、公益財団法人 中谷医工計測技術振興財団より研究助成金を受けております。この場をお借りして深く感謝いたします。

参考文献

- 1) 『ペーパーディスク法を使用した天然防腐剤の抗菌効果の測定』
第4回 坊っちゃん科学賞 研究論文コンテスト (東京理科大学)
山村学園 山村国際高等学校 生物部 (2012)
- 2) 『ソックスレー法を使用した天然防腐剤の抗菌成分量の比較』
第5回 坊っちゃん科学賞 研究論文コンテスト (東京理科大学)
山村学園 山村国際高等学校 生物部 (2013)
- 3) 『なぜ「本わさび」の抗菌効果は高いのか』
第12回 全国高校生理科・科学論文大賞受賞作品集 (神奈川大学)
山村学園 山村国際高等学校 生物部 (2014)
- 4) 『天然食品「マヌカハニー」の絶大な抗菌効果』
第13回 全国高校生理科・科学論文大賞受賞作品集 (神奈川大学)
山村学園 山村国際高等学校 生物部 (2015)
- 5) 『マヌカハニー (抗菌生蜂蜜) の抗菌効果のすごさ』
第14回 全国高校生理科・科学論文大賞受賞作品集 (神奈川大学)
山村学園 山村国際高等学校 生物部 (2016)
- 6) 『マヌカハニーのマウス腸内フローラにおよぼす影響』
日本農芸化学会 (札幌大会) ジュニア農芸化学会 2016「高校生による研究発表会」(金賞受賞)
「化学と生物」Vol. 55, No. 1 日本農芸化学会会誌 (2017)
山村学園 山村国際高等学校 生物部
- 7) 『マウス腸内フローラから観察したマヌカハニーの機能性』
第6回高校生バイオサミット in 鶴岡 ポスター発表 (農林水産大臣賞受賞)
山村学園 山村国際高等学校 生物部 (2016)
- 8) 『マウス腸内フローラから健康食品の機能性を探る』
第7回高校生バイオサミット in 鶴岡 ポスター発表 (審査員特別賞受賞)
山村学園 山村国際高等学校 生物部 (2017)
- 9) 『デキストラン硫酸ナトリウム誘発性腸炎マウスモデルにおける varenicline の改善効果』
就実大学薬学雑誌 第3巻 (2016)
- 10) Manuka Health New Zealand Ltd :manukahealth.co.nz
- 11) 日本クレア : clea-japan.com
- 12) 『目に見えないヒト常在細菌叢のネットワークをのぞく』宇宙航空環境医学 49(3) (2012)
- 13) 『常在細菌叢が操るヒトの健康と疾患』実験医学 32(5) (2014)